

DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES ARGENTINAS DE *CLINOPODIUM*
(LAMIACEAE: NEPETOIDEAE) A TRAVÉS DE CARACTERES MORFOLÓGICOS
Y ANATÓMICOS DE SUS FRUTOS

Melina Scandaliaris

Becaria SECyT

Cátedra de Botánica Taxonómica
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Córdoba

Av. Valparaiso s/n, CC 509, Córdoba, ARGENTINA
mscan@agro.unc.edu.ar

Gloria E. Barboza

IMBIV – CONICET

Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Córdoba
Córdoba, ARGENTINA
gbarboza@imbiv.unc.edu.ar

RESUMEN

Se realizó un estudio integral comparado de los frutos de las especies de *Clinopodium* (Lamiaceae: Nepetoideae: Mentheae: Menthinae) nativas de Argentina, con los siguientes objetivos: a) caracterizar su exomorfología y anatomía; b) correlacionar la estructura del pericarpo con el fenómeno de mixocarpia; c) valorar la incidencia de los caracteres carpológicos para diferenciar las especies. Las observaciones se efectuaron con microscopía óptica y electrónica de barrido. La forma, el tamaño, la ornamentación de la superficie, el indumento y la forma del hilo cárpico fueron los caracteres exomorfológicos de mayor valor diagnóstico. Se comprobó la presencia del fenómeno de mixocarpia en el género pero no fue constante para todas las especies analizadas. La estructura del pericarpo puso en evidencia dos patrones anatómicos en el epicarpo que se asocian a la producción de mucílagos en tanto que la región externa del mesocarpo es distinta según se trate de especies mixocárpicas o no. En base a los resultados obtenidos se discuten algunas consideraciones taxonómicas.

PALABRAS CLAVES: Lamiaceae, *Clinopodium*, Argentina, frutos, exomorfología, histología, mixocarpia

ABSTRACT

Differentiation of Argentinean *Clinopodium* (Lamiaceae: Nepetoideae) species through morphological and anatomical fruits characters. An integral study of fruits belonging to native Argentinean species of *Clinopodium* (Lamiaceae: Nepetoideae: Mentheae: Menthinae) has been made with the following aims: a) to characterize its exomorphology and anatomy; b) to correlate the pericarp structure with the phenomenon of the myxocarpy; c) to assess the incidence of the carpological characters to differentiate the species. Observations have been carried out using light and scanning electron microscope. Shape, size, surface ornamentation, indumentum and shape of abscission scar were the most diagnostic value features. Myxocarpy was proved in the genus but this phenomenon is not consistent in all the studied species. The pericarp structure revealed two anatomical patterns, each one associated with the production of mucilage, whereas the outer region of the mesocarp varies according to the species. Some taxonomical considerations have been discussed.

KEY WORDS: Lamiaceae, *Clinopodium*, Argentina, fruits, exomorphology, histology, myxocarpy

INTRODUCCIÓN

Clinopodium L. (tribu Mentheae, subtribu Menthinae) consta de ca. 100 especies circunscritas en su mayoría a América (desde Canadá hasta Chile y Argentina) y a Eurasia templada. En la moderna concepción de este género, se incluyen a las especies de *Satureja* L. del Nuevo Mundo, quedando este último restringido a Eurasia y África (Harley & Granda Paucar 2000; Harley et al. 2004). Acorde a Bräuchler et al. (2010) tal circunscripción hace de *Clinopodium* el género taxonómicamente más difícil y morfológicamente más diverso dentro de la subtribu Menthinae. Estos autores realizan la filogenia de esta subtribu, analizando 48 especies de *Clinopodium* y demostrando que las especies de este género no forman un grupo monofilético; por lo tanto, su circunscripción actual resulta muy poco natural.

En Argentina, habitan cinco especies nativas de *Clinopodium*: *C. bolivianum* (Benth.) Kuntze subsp. *tarijense* (Weddell ex Griseb.) J.R.I. Wood, *C. gilliesii* (Sw.) Kuntze y *C. odorum* (Griseb.) Harley de la zona serrana del centro y noroeste del país, *C. brownei* (Sw.) Kuntze del litoral y *C. darwinii* (Benth.) Kuntze de la estepa patagónica (Harley 2008).

Diversos autores destacan la importancia taxonómica y filogenética del pericarpo en Lamiaceae a distin-

tos niveles jerárquicos, junto a otros caracteres florales, palinológicos y seminales (Cantino et al. 1992; Ryding 1994, 1995, 2010; Moon et al. 2009). Según Ryding (1994), algunos caracteres de los frutos, particularmente aquellos del esclerénquima, son algo conservativos a niveles supragenéricos pero son consistentes dentro del género.

Harley et al. (2004) describen de manera general la exomorfología de los frutos de *Clinopodium* en tanto que otros autores han estudiado la anatomía de un total de 8 especies, incluyendo a *C. bolivianum* (Wojciechowska 1966; Ryding 1995, 2010; Duletić-Laušević & Marin 1999; Martín Mosquero et al. 2004). Por su parte, Moon et al. (2009) proponen un análisis filogenético de las Mentheae utilizando caracteres de los frutos observados con microscopía electrónica de barrido; en dicho estudio, *C. vulgare* L. y *C. nepeta* (L.) Kuntze son los representantes de *Clinopodium*. Datos exomorfológicos de *C. vulgare* fueron también reportados por Wojciechowska (1966) y Husain et al. (1990).

La mixocarpia, fenómeno debido a la presencia de células mucilaginosas en el epicarpo, es otro carácter relevante en la subfamilia Nepetoideae, habiéndose reportado que casi el 70% de las especies poseen frutos mucilaginosos (Ryding 1994). Según Ryding (2001), se pueden presentar tres situaciones distintas: géneros exclusivamente no mixocárpicos, como ocurre en *Alvesia* Welw., *Holostylon* Robyns & Lebrun (Ryding 1992) y *Lepechinia* Willd. (Scandaliaris & Barboza 2011); géneros exclusivamente mixocárpicos como por ejemplo *Lavandula* L. (Ryding 1992) y, géneros con especies mixocárpicas y no mixocárpicas, caso de *Hyptis* Jacq. y *Ocimum* L. (Ryding 1992). Cuando existe mixocarpia, las células que producen mucílago se pueden hinchar sin liberar el mucílago o bien éste queda totalmente expuesto. En *Clinopodium*, la mixocarpia no fue mencionada para las especies estudiadas por Ryding (2010) mientras que Duletić-Laušević & Marin (1999) y Moon et al. (2009) comprueban la ausencia de este fenómeno en *C. vulgare* y *C. nepeta*.

Con respecto a las especies argentinas, la información sobre los caracteres morfológicos y anatómicos de los frutos es más que fragmentaria (Wood 2011). En cambio, cuatro de estas especies (*C. odorum* no incluida) han sido incorporadas en el análisis molecular realizado por Bräuchler et al. (2010), apareciendo en clados distintos y emparentadas con especies sudamericanas de otros géneros.

En base a estos antecedentes y como parte de un trabajo integral sobre la carpología de las especies de Lamiaceae nativas de Argentina, los objetivos de este trabajo fueron: a) describir las especies de *Clinopodium* nativas de Argentina a través de los caracteres exomorfológicos y anatómicos de sus frutos; b) correlacionar la estructura del pericarpo con el fenómeno de mixocarpia; c) valorar la incidencia de los caracteres carpológicos para diferenciar las especies.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se trabajó con material de herbario (ACOR, CORD, CTES, LIL y SI) y con muestras que se recolectaron a campo. Frutos de estos últimos se fijaron en solución FAA (solución de formol, alcohol etílico 96%, ácido acético y agua, en proporción de 2:10:1:7) por 48 hs, y luego se guardaron en alcohol etílico al 70% hasta su utilización. Los materiales herborizados se depositaron en el herbario ACOR y CORD.

Especímenes examinados: *Clinopodium bolivianum* subsp. *tarijense*: ARGENTINA. JUJUY. Depto. Capital: Quebrada de Chijran, camino a Tilquiza, 22 Sep 1991, Guaglianone 2769 (CTES); Los Morados, 31 Ene 1981, Ahumada 4271 (CTES). SALTA. Depto. Capital: Quebrada de San Lorenzo, junto al cauce del arroyo, 30 Ago 1977, Novara et al. 431 (CORD). *Clinopodium brownei*: ARGENTINA. CORRIENTES. Depto. Curuzú Cuatiá: Río Mocoretá, en monte marginal, 22 Oct 1971, Burkart et al. 2838 (SI). Depto. Goya: Colonia San José, 20 km al S de Goya, 27 Nov 1979, Schinini 19313 (CTES). Depto. San Luis del Palmar: 35 km SE de San Luis del Palmar, 2 Nov 1975, Cristóbal 1412 (CTES). Depto. Santo Tomé: Caza Pava, 18 Nov 1944, Ibarrola 1317 (LIL). *Clinopodium darwinii*: ARGENTINA. NEUQUÉN. Depto. Zapala: por RN 40, 20 km antes de Zapala, viniendo desde Catán Lil, 30 Ene 2010, Barboza et al. 2814 (CORD). RIO NEGRO. Depto. Valcheta: Laguna Azul a Cerro Puntudo, 27 Ene 2002, Troiani et al. 15478 (CTES). SANTA CRUZ. Depto. Güer Aike: RN 40, Estancia El Tero, 31 Ene 2003, Cocucci et al. 2526 (CTES). *Clinopodium gilliesii*: ARGENTINA. CATAMARCA. Depto. Ambato: Sierra de Ambato (Falda E, subiendo desde El Rodeo hacia El Manchado) cerca de la Casa de Piedra del primer campo, 22 Feb 1971, Hunziker 20982 (CORD). CÓRDOBA. Depto. Punilla: Por el camino viejo desde Copina rumbo a El Cóndor, a ca. 12,9 km del Río Las Suelas, 21 Dic 2004, Barboza et al. 1116 (CORD); Camino Copina-Cóndor, entre cuarto y quinto puente colgante, 9 Feb 2010, Proyecto Colección de Semillas (CS) 1418 (ACOR). *Clinopodium odorum*: ARGENTINA. CÓRDOBA. Depto. Punilla: Sierra Chica, Cerro Uritorco, falda occidental, 15 Ene 1965, Hunziker 18024 (CORD); Camino Copina - Cóndor, entre cuarto y

quinto puente colgante, 9 Feb 2010, *Proyecto Colección de Semillas (CS) 1417 (ACOR)*; Sierra Grande (falda E), entre El Cóndor y Copina, 5 Mar 1992, *Zygodlo 146 (CORD)*.

METODOLOGÍA

Estudios exomorfológicos

Se realizaron fotografías con microscopio electrónico de barrido (MEB) para lo cual se seleccionaron frutos maduros que fueron montados en discos de aluminio con cinta adhesiva doble faz. Las muestras se bañaron con oro y se observaron en un microscopio JEOL JSM 35 CF, en el Laboratorio de Microscopía y Microanálisis de la Universidad Nacional de San Luis (Argentina). Además, se efectuaron extendidos del epicarpo que se colorearon con safranina para observar el ordenamiento de las células en vista superficial.

Los aspectos analizados fueron: 1) tamaño, 2) forma en vista dorsal y ventral, 3) simetría, 4) color, 5) ordenamiento de las células en vista superficial, 6) ornamentación de la superficie al MEB, 7) ubicación y forma del hilo cárpico, 8) presencia y tipo de ceras.

Para estimar el tamaño de los frutos, se midió el ancho y el largo en 3 muestras de 15 frutos por cada una y por especie en tanto que para la forma se tomó como referencia a Stearn (1983). El color del pericarpo se determinó por la comparación con la carta de colores de Munsell (2000). La descripción de la superficie se realizó siguiendo los patrones establecidos por Budansteve & Lobova (1997) y Bonzani et al. (2011).

Mixocarpia

Para verificar la mixocarpia, se remojaron frutos en agua destilada por 72 horas. Posteriormente, la presencia de mucilagos se puso en evidencia utilizando azul brillante de cresilo al 1%. Se midió el ancho del halo producido y se tipificó la reacción según Bonzani et al. (2011).

Estudios anatómicos

Se realizaron preparados permanentes con los frutos fijados en FAA y con los provenientes de herbario. Se siguió la técnica de Johansen (1940) y González & Cristóbal (1997). Los frutos extraídos de ejemplares de herbario fueron previamente remojados durante 10 días en alcohol etílico 96%, glicerol y agua en partes iguales (Budansteve & Lobova 1997). Se efectuaron cortes transversales de 10–12 μm , con micrótopo de accionamiento manual. Los preparados se colorearon con safranina y azul astral. Para la observación se utilizó microscopio óptico Axiophot Zeiss, con cámara digital incluida.

Para las descripciones anatómicas, se siguió el criterio de Wojciechowska (1966) quien considera a las esclereidas como parte del mesocarpo.

RESULTADOS

Clinopodium bolivianum subsp. *tarijense*

Exomorfoloía (Figs. 1 A–F; 3 A).—Núculas de 2–2,4 \times 0,45–0,5 mm. Forma obclavado-subulada curvándose hacia el ápice, de base obtusa. Asimétricas. De color marrón amarillento oscuro. Epicarpo con grandes células mucilaginosas rodeadas por pequeñas células no mucilaginosas (Fig. 3 A). Superficie al MEB espinulosa en la mitad superior, con “espinas” (tricomas) estriado-acordonados, y superficie reticulado-areolado lisa a levemente estriada en la mitad inferior. Hilo cárpico alargado y ubicado en la base hacia la cara ventral; zona perihilar con ceras de tipo cristaloides esférico.

Mixocarpia (Fig. 2 G).—Reacción moderadamente fuerte, con un halo de mucílago continuo de 0,17–0,3 mm.

Anatomía (Fig. 3 B, C).—Pericarpo de 25–32,8 μm de grosor. Epicarpo de 7,8–9,4 μm , formado por una capa de células mucilaginosas más o menos oblongas entremezcladas con células no mucilaginosas isodiamétricas a rectangulares; hacia el ápice del fruto, células no mucilaginosas isodiamétricas a alargadas tangencialmente intercaladas con tricomas bi-tricelulares no mucilaginosos, cubiertos por una gruesa capa de cutícula. Mesocarpo de 14,1–18,7 μm , formado por tres regiones: la más externa, de 1,6–3,1 μm , con una o dos capas de células aplanadas (alargadas tangencialmente) de límites difusos e intensamente teñidas; la región media unistrata, de 4,7–6,2 μm , con células parenquimáticas isodiamétricas incoloras; la región más interna también

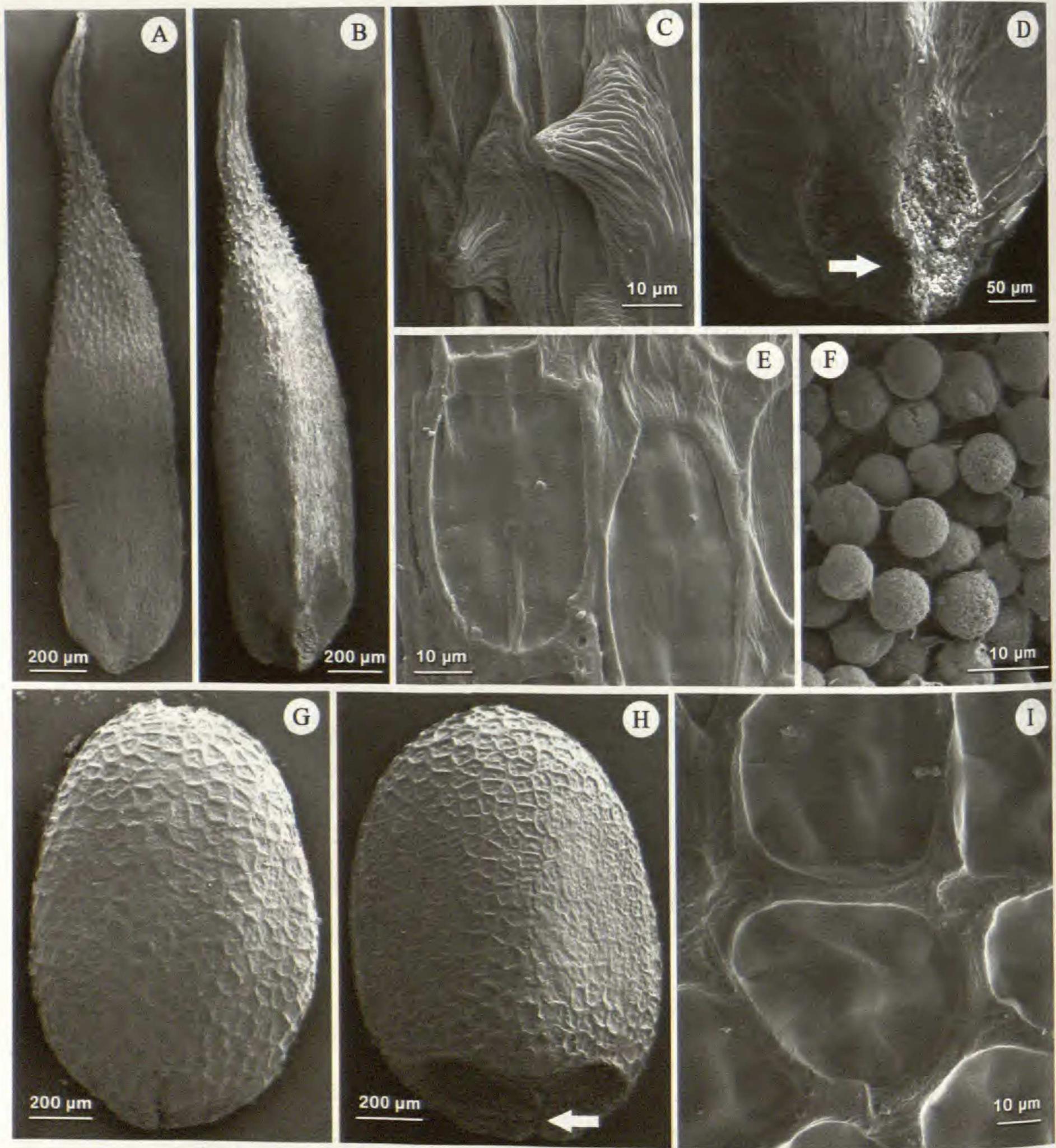


FIG. 1. Microfotografías con MEB. A–F *Clinopodium bolivianum* subsp. *tarijense*. A. Vista cara dorsal; B. Vista cara ventral; C. Detalle de los tricomas y su ornamentación; D. Vista zona hilar; E. Detalle de la ornamentación de la superficie; F. Detalle de ceras presentes en zona perihilar. G–I *C. brownnei*. G. Vista cara dorsal; H. Vista cara ventral; I. Detalle de ornamentación de la superficie. Con flecha se muestra el hilo cárpico. (A–F de Ahumada 4271. G–I de Schinini 19313).

unistrata, de 7,8–9,4 µm, con esclereidas alargadas radialmente o más o menos isodiamétricas, de paredes engrosadas y lumen redondeado pequeño. Endocarpo unistrato, de 3,1–4,7 µm, con células oblongas y paredes con engrosamientos escalariformes.

Clinopodium brownnei

Exomorfología (Fig. 1 G–I).—Núculas de 1–1,2 × 0,7–0,8 mm. Forma elipsoidea, de base y ápice redondeados, de sección más o menos trígona. Levemente asimétricas. De color marrón amarillento oscuro a marrón rojizo

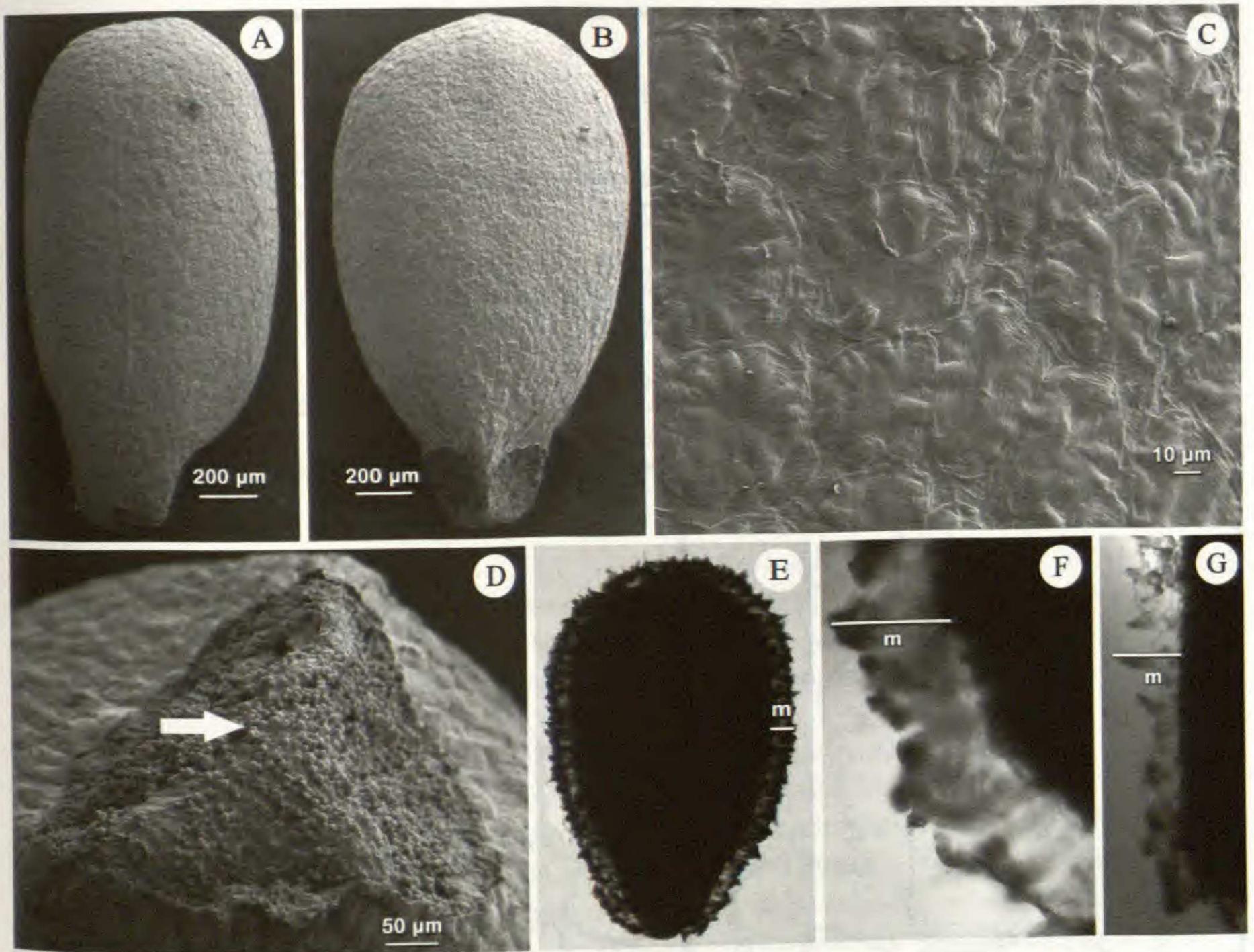


FIG. 2. A–D Microfotografías con MEB. A–D *Clinopodium darwinii*. A. Vista cara dorsal; B. Vista cara ventral; C. Detalle de ornamentación de la superficie; D. Vista zona hilar. E–G Mixocarpia. E. *C. darwinii*; F. *C. brownei*; G. *C. bolivianum* subsp. *tarijense*. m. mucilago. Con flecha se muestra el hilo cárpico. (A–F de Cocucci et al. 2526. G de Schinini 19313. H de Ahumada 4271)

oscuro. Epicarpo con grandes células mucilaginosas rodeadas por pequeñas células no mucilaginosas. Superficie al MEB de tipo reticulado redondeado-radiado, con estrías cuticulares radiales. Hilo cárpico triangular y ubicado en la base hacia la cara ventral; zona perihilar con ceras de tipo cristaloides esférico.

Mixocarpia (Fig. 2 F).—Reacción moderadamente fuerte, con un halo de mucilago continuo de 0,23–0,25 mm.

Anatomía.—Pericarpo de 88,9–106,2 µm de grosor. Epicarpo, de 12,5–20,3 µm, formado por una capa de células mucilaginosas en general alargadas tangencialmente entremezcladas con células no mucilaginosas alargadas radialmente. Tricomas ausentes. Mesocarpo de 74,8–84,3 µm, con tres regiones: la más externa, de 6,2–7,8 µm, con una o dos capas de células aplanadas de límites difusos e intensamente teñidas; la región media unistrata, de 3,1–4,7 µm, con células parenquimáticas aplanadas e incoloras; la región más interna unistrata, de 65,5–71,8 µm, con esclereidas alargadas radialmente de paredes engrosadas y lumen redondeado pequeño. Endocarpo unistrato, de ca. 1,6 µm, de células oblongas con paredes gruesas.

Clinopodium darwinii

Exomorfología (Fig. 2 A–D).—Núculas de 1,6–1,8 × 0,9–1 mm. Piriformes, de base truncada y ápice redondeado. Levemente asimétricas. De color marrón amarillento a marrón oscuro. Epicarpo con grandes células mucilaginosas rodeadas por pequeñas células no mucilaginosas. Superficie al MEB de tipo reticulado redondeado-radiado y estrías cuticulares concéntricas. Hilo cárpico triangular, ubicado en la base hacia la cara ventral; zona perihilar con ceras de tipo cristaloides esférico.

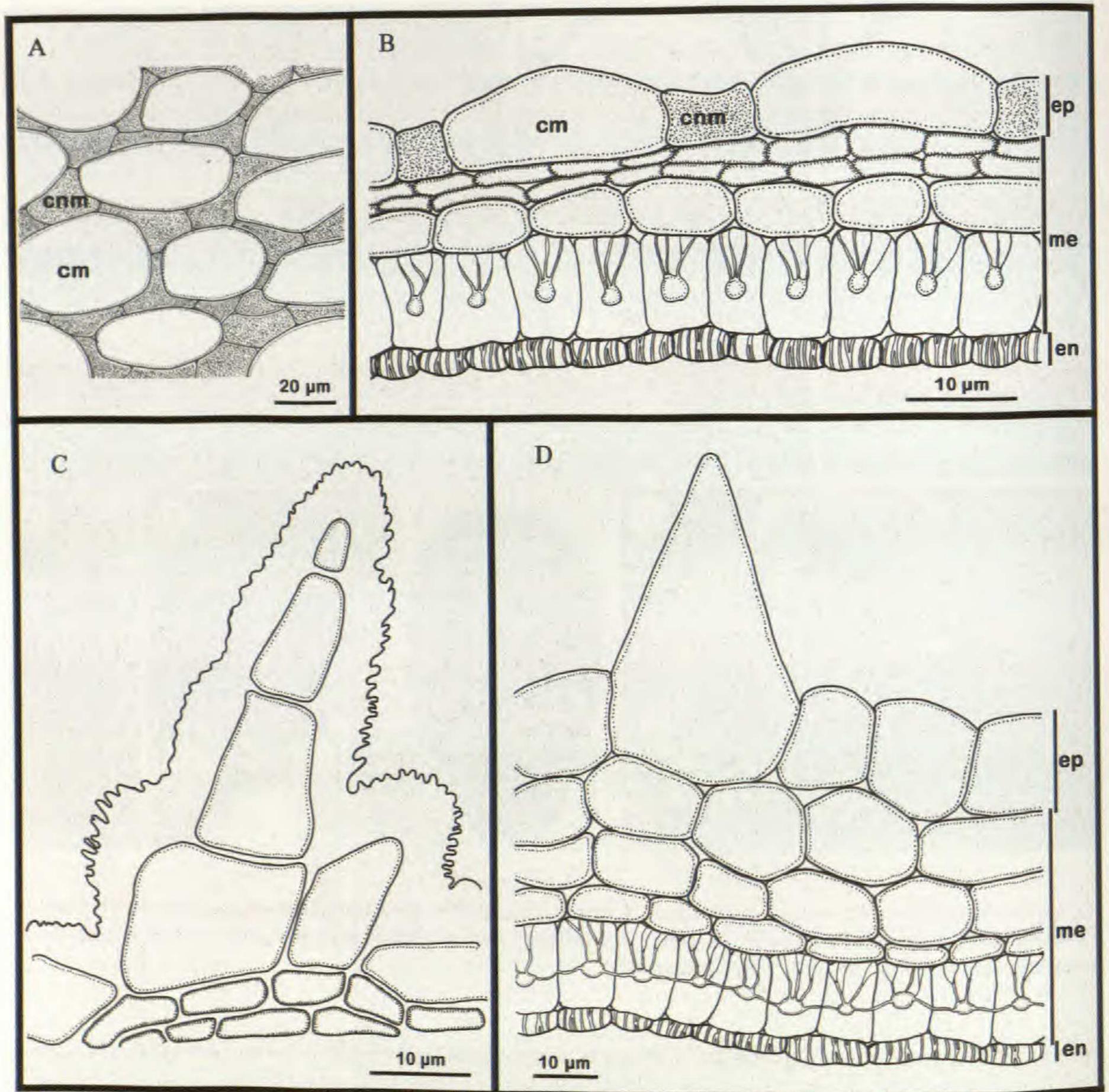


FIG. 3. Esquemas de la estructura del pericarpio. A—*C. bolivianum* subsp. *tarijense*. A. Vista superficial del epicarpo mostrando ordenamiento de células no mucilaginosas y mucilaginosas; B. Estructura de pericarpio mucilaginoso; C. Detalle de tricoma pluricelular con gruesa cutícula; D. *C. odorum*, estructura de pericarpio no mucilaginoso. Abreviaturas cnm. células no mucilaginosas; cm. células mucilaginosas; ep. epicarpo; me. mesocarpo; en. endocarpo. (A–C de Ahumada 4271. D de CS 1417).

Mixocarpia (Fig. 2 E).—Reacción moderadamente fuerte, con un halo de mucílago continuo de 0,12–0,25 mm.

Anatomía.—Pericarpio de 29,7–45,2 μm de grosor. Epicarpo unistrato, de 4,7–7,8 μm , formado por dos tipos de células: las mucilaginosas, alargadas y más o menos ovaladas, entremezcladas con las no mucilaginosas, más pequeñas e intensamente teñidas de rojo. Tricomas ausentes. Mesocarpo de 21,9–31,2 μm , con dos regiones: la externa, de 4,7–7,8 μm , con 1 a 2 capas de células rectangulares aplanadas e intensamente teñidas de rojo; la interna, de 17,2–23,4 μm , con esclereidas en empalizada, alargadas radialmente de paredes engrosadas y lumen redondeado. Endocarpo unistrato, de 3,1–6,2 μm , con células isodiamétricas a rectangulares de paredes con engrosamientos escalariformes.

Clinopodium gilliesii

Exomorfología (Fig. 4 A–E).—Núculas de 1,1–1,3 × 0,5–0,6 mm. Forma obovoidea, ápice obtuso a redondeado y base turbinada (en forma de cono invertido), de sección trigona. Asimétricas. De color marrón intenso a marrón oscuro. Epicarpo con células y tricomas unicelulares no mucilaginosos. Superficie al MEB tuberculada, con leves estriaciones concéntricas, excepto en el ápice donde presenta tricomas estriado-acordonados. Hilo cárpico elíptico ubicado en la base hacia la cara ventral; zona perihilar con ceras de tipo cristaloides esférico.

Mixocarpia.—No produce mucílago.

Anatomía.—Pericarpo de 27,4–37,5 µm de grosor. Epicarpo de 7,8–9,4 µm, con una capa de células alargadas tangencialmente intercaladas con tricomas unicelulares dispersos. Mesocarpo de 16,5–25 µm, con 3 regiones unistratas cada una: la más externa, de células oblongas con paredes redondeadas; la media, de células rectangulares más aplanadas e incoloras; y la más interna de esclereidas alargadas radialmente, de ca. 7,8 µm, con paredes engrosadas y lumen redondeado. Endocarpo unistrato, de ca. 3,1 µm, con células rectangulares de paredes con engrosamientos escalariformes.

Clinopodium odorum

Exomorfología (Fig. 4 F–I).—Núculas de 1,4–1,5 × 0,5–0,7 mm. Forma obclavado-subulada, curvándose hacia el ápice y de base turbinada. Asimétricas. De color marrón oscuro. Epicarpo con células y tricomas unicelulares no mucilaginosos. Superficie al MEB espinulosa, las “espinas” (tricomas) estriado-acordonadas. Hilo cárpico alargado y ubicado en la base hacia la cara ventral; zona perihilar, con ceras de tipo cristaloides esférico.

Mixocarpia.—No produce mucílago.

Anatomía (Fig. 3 D).—Pericarpo de 59,2–79,9 µm de grosor. Epicarpo de 14 a 19 µm, con una capa de células oblongas a redondeadas y tricomas unicelulares. Mesocarpo de 42,1–56,2 µm, con 3 regiones: la más externa, de 23,4–31,2 µm, formada por dos capas de células parenquimáticas más o menos redondeadas con paredes delgadas; la media unistrata, de 3,1–4,7 µm, con células más o menos rectangulares e incoloras; la más interna, de 15,6–20,3 µm, con esclereidas alargadas radialmente, de paredes engrosadas y lumen redondeado a estrellado. Endocarpo unistrato, de 3,1–4,7 µm, con células parenquimáticas, aplanadas tangencialmente, de paredes con engrosamientos escalariformes.

En la Tabla 1, se muestran los caracteres exomorfológicos diferenciales de los frutos, la reacción mucilaginosa y la variación en grosor de las capas del pericarpo, para las especies estudiadas.

DISCUSION

Exomorfología

Wood (2011) señaló la forma y el indumento de los frutos como los caracteres taxonómicos más relevantes para las especies bolivianas de *Clinopodium*. Además de estos rasgos, pudimos diferenciar las especies argentinas por otros tales como el tamaño, la ornamentación de la superficie y la forma del hilo cárpico. En cambio, el color, la simetría y la posición del hilo cárpico al igual que la presencia y tipo de ceras en la región perihilar no presentaron variaciones diagnósticas a nivel específico. Martín Mosquero et al. (2004) reportó frutos simétricos para este género en contraposición a los resultados aquí presentados.

Formas elipsoideas a ovoideas, oblongo-cilíndricas, obovoideas o subglobosas fueron citadas para el género por Harley et al. (2004), encontrándose también las piriformes (*C. darwinii*) y obclavado-subuladas (*C. bolivianum* subsp. *tarijense* y *C. odorum*). El ápice y la base de estos frutos también contribuyen para la diferenciación específica (Martín Mosquero et al. 2004); así, en general el ápice es redondeado destacándose *C. bolivianum* subsp. *tarijense* y *C. odorum* por presentar el ápice alargado a muy alargado y curvo; en cuanto a la base, es propia para cada especie salvo en *C. odorum* y *C. gilliesii* que comparten la característica de ser turbinada.

Según la clasificación de Moon et al. (2009), solo *C. bolivianum* subsp. *tarijense* presenta frutos grandes (> 2 mm, ápice incluido), mientras que en el resto de las especies son pequeños (< 2 mm) tal como lo reportado para *C. vulgare* y *C. nepeta* (Husain et al. 1990; Martín Mosquero et al. 2004; Moon et al. 2009).

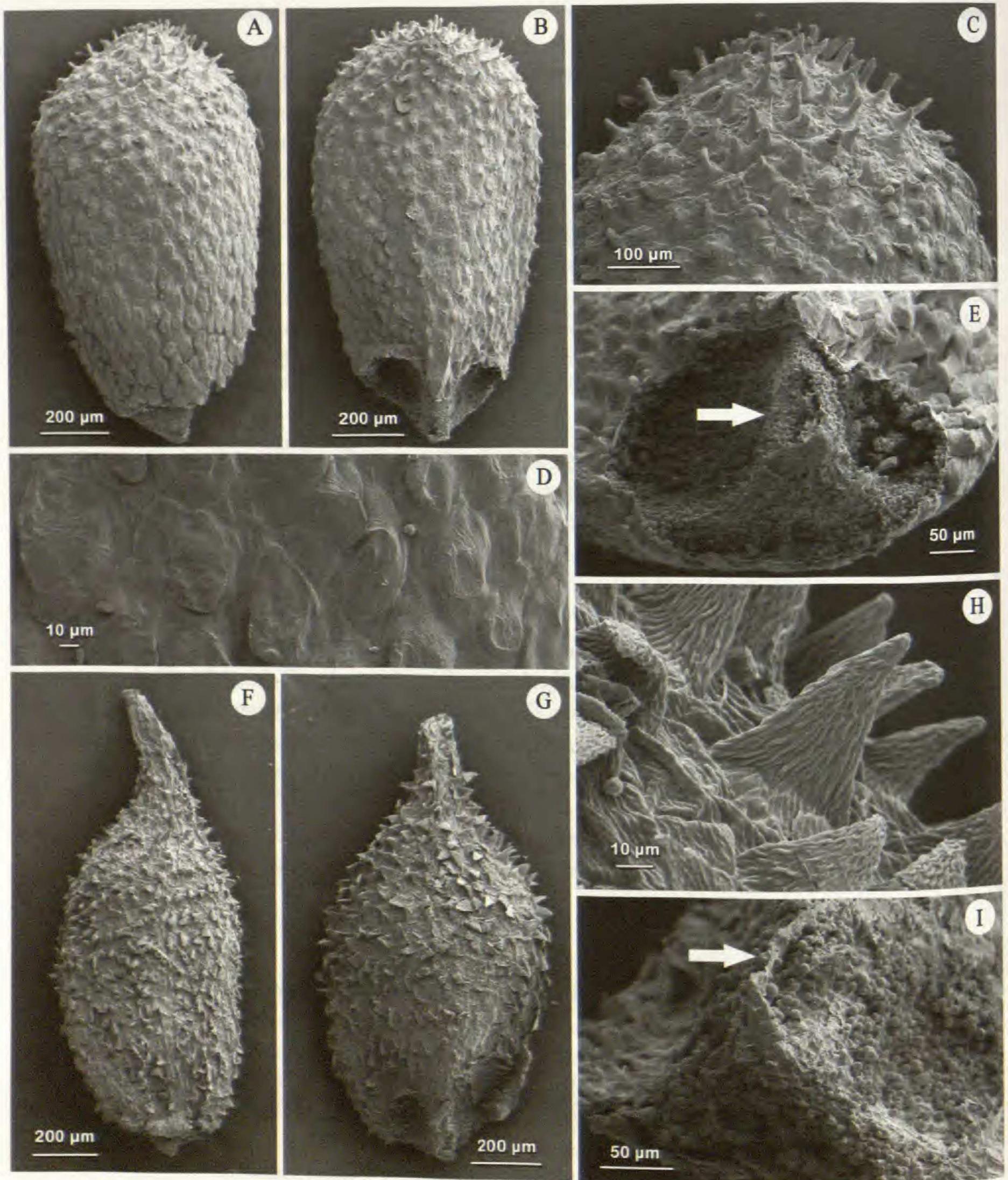


FIG. 4. Microfotografías con MEB. A–E *Clinopodium gilliesii*. A. Vista cara dorsal; B. Vista cara ventral; C. Detalle de los tricomas y su ornamentación del ápice del fruto; D. Detalle de ornamentación de la superficie en la zona media e inferior; E. Vista zona hilar. F–I *C. odorum*. F. Vista cara dorsal; G. Vista cara ventral; H. Detalle de ornamentación de la superficie; I. Vista zona hilar. Con flecha se muestra el hilo cárpico. (A–E de CS 1418. F–I de CS 1417).

La presencia o ausencia de tricomas, su posición en los frutos y el número de células aportan caracteres diagnósticos a nivel específico. La variación va desde frutos glabros (*C. darwinii* y *C. brownei*), apicalmente pubescentes (*C. bolivianum* subsp. *tarijense* y *C. gilliesii*) a íntegramente cubiertos por tricomas (*C. odorum*). En cuanto al número de células, son pluricelulares en *C. bolivianum* subsp. *tarijense* y unicelulares en las otras dos;

TABLA 1. Caracteres diferenciales exomorfológicos, anatómicos y mixocarpia en especies de *Clinopodium*.

	<i>C. bolivianum</i> subsp. <i>tarjense</i>	<i>C. browni</i>	<i>C. darwinii</i>	<i>C. gilliesii</i>	<i>C. odorum</i>
Forma	Largamente obclavado-subulada, ápice curvo, base obtusa (Fig. 1 A, B) 2-2,4 x 0,4-0,5 Asimétricas (Fig. 1 A, B)	Elipsoidea, ápice y base redondeadas (Fig. 1 G, H) 1-1,2 x 0,7-0,8 Levemente asimétricas (Fig. 1 G, H)	Piriforme, ápice redondeado, base truncada (Fig. 2 A, B) 1,6-1,8 x 0,9-1 Levemente asimétricas (Fig. 2 A)	Obovoidea, ápice obtuso a redondeado, base turbinada (Fig. 4 A, B) 1,1-1,3 x 0,5-0,6 Asimétricas (Fig. 4 A)	Obclavado-subulada, ápice curvo, base turbinada (Fig. 4 F, G) 1,4-1,5 x 0,5-0,7 Asimétricas (Fig. 4 F, G)
Tamaño (mm)					
Simetría	Asimétricas (Fig. 1 A, B)	Levemente asimétricas (Fig. 1 G, H)	Levemente asimétricas (Fig. 2 A)	Asimétricas (Fig. 4 A)	Asimétricas (Fig. 4 F, G)
Superficie	Mitad superior con tricomas estriado-acordonados (Fig. 1 C). Mitad inferior reticulado-areolado, lisa a levemente estriada (Fig. 1 E)	Reticulado redondeado - radiado (Fig. 1 I)	Reticulado redondeado - radiado, con estrias cuticulares concéntricas (Fig. 2 C)	Tuberculada (Fig. 4 A, B) excepto el ápice con tricomas estriado-acordonados (Fig. 4 C). Tubérculos con leves estriaciones concéntricas (Fig. 4 D)	Espinulosa (Fig. 4 F, G), con tricomas estriado-acordonados (Fig. 4 H)
Hilo cárpico	Alargado (Fig. 1 D)	Triangular (Fig. 1 H)	Triangular (Fig. 2 D)	Elíptico (Fig. 4 E)	Alargado (Fig. 4 I)
Mixocarpia	Moderadamente fuerte, halo continuo de 0,17-0,3mm (Fig. 2 G)	Moderadamente fuerte, halo continuo de 0,23-0,25mm (Fig. 2 F)	Moderadamente fuerte, halo continuo de 0,12-0,25mm (Fig. 2 E)	Ausente	Ausente
Grosor pericarpo (µm)	25-32,8	88,9-106,2	29,7-45,2	27,4-37,5	59,2-79,9
Epicarpo (µm)	7,8-9,4	12,5-20,3	4,7-7,8	7,8-9,4	14-19
Tricomas	Pluricelulares	-	-	Unicelulares	Unicelulares
Mesocarpo (µm)	14,1-18,7	74,8-84,3	21,9-31,2	16,5-25	42,1-56,2
Nº regiones mesocarpo	3	3	2	3	3
Esclereidas (µm)	7,8-9,4	65,5-71,8	17,2-23,4	7,8	15,6-20,3
Endocarpo (µm)	3,1-4,7	1,6	3,1-6,2	3,1	3,1-4,7

en todos los casos, estos tricomas están cubiertos por una gruesa cutícula estriado-acordonada, carácter que no había sido mencionado en la literatura para el género.

La ornamentación presenta diferentes patrones que concuerdan con los descritos por Budanstev & Lobo-va (1997) para algunos géneros de Nepetoideae y complementan a los mencionados por Moon et al. (2009) para la tribu Mentheae. Así, *C. vulgare* y *C. nepeta*, que poseen superficie reticulada con estructura secundaria estriada (Moon et al. 2009), comparten este carácter con *C. bolivianum* subsp. *tarijense*, *C. brownei* y *C. darwinii*. Estas tres especies se distinguen a su vez por la forma de la superficie reticulada y la estructura secundaria (cfr. Tabla 1), modelos que ya habían sido descritos para especies de *Mentha* (Bonzani et al. 2011). Por su parte, *C. gilliesii* presenta superficie tuberculada y *C. odorum* espinulosa dada por la cobertura total de los tricomas.

El hilo cárpico, ubicado en la base hacia la cara ventral, varía en su forma desde alargado (*C. bolivianum* subsp. *tarijense* y *C. odorum*), elíptico (*C. gilliesii*) a triangular (*C. brownei* y *C. darwinii*). En cambio, la región perihilar es homogénea en todas las especies, con depósitos de ceras cristaloides esféricas similares a lo mencionado por Martín Mosquero et al. (2004) así como a los de algunas especies de otros géneros de Nepetoideae: *Mentha* L. (Bonzani et al. 2011), *Hedeoma* Pers., *Minthostachys* (Benth.) Spach, *Lepechinia* Willd. (Scandaliaris & Barboza 2011, 2012), *Hyptis* Jacq. (obs. pers.).

Mixocarpia

Según la literatura, los frutos de las especies de *Clinopodium* hasta ahora estudiadas no producen mucílagos (Duletić-Laušević & Marin 1999; Moon et al. 2009). Pudimos comprobar que este fenómeno está presente en el género pero no es constante para todas las especies nativas de Argentina (cfr. Tabla 1). Este carácter, que resulta novedoso para *Clinopodium*, se comporta de acuerdo a lo reportado para otros géneros (Harley 1985; Ryding 1992, 2001), en lo que concierne a su presencia/ausencia y al tipo de reacción producida; en este último caso, las especies mixocárpicas analizadas presentan mucílago expuesto con reacción moderadamente fuerte.

Ryding (1992), para la tribu Ocimeae (Nepetoideae), concluye que tendencias evolutivas hacia la reducción de la mixocarpia se han observado en especies que crecen en ambientes húmedos, o que tienen frutos grandes o en aquéllas que poseen frutos con glándulas o con pelos (salvo que éstos solo estén presentes en el ápice). Si relacionamos estas afirmaciones con las especies argentinas de *Clinopodium* (tribu Mentheae, Nepetoideae), se observaron distintas situaciones: en las especies de zonas húmedas, *C. brownei* (litoral argentino) y *C. bolivianum* subsp. *tarijense* (selva tucumano-boliviana), ambas con mixocarpia moderadamente fuerte, no responden a lo supuesto por Ryding (1992). En cuanto a las especies de zonas semiáridas, *Clinopodium gilliesii* (Argentina hasta Perú), no mixocárpica, se contrapone a lo esperado por este autor ya que según el hábitat y la presencia apical de pelos en el fruto tendría que ser mixocárpica. En cambio, *C. odorum* (zona semiárida del centro y norte de Argentina) y *C. darwinii* (estepa patagónica), se ajustan a las afirmaciones de Ryding (1992) siendo esta última una especie mixocárpica típica de ese ambiente en tanto que la primera es no mixocárpica, presentando sus frutos cubiertos completamente por pelos, los que, según Ryding (1992, 2001) cumplen la función de anclaje reemplazando al mucílago.

Anatomía

A pesar de que los caracteres histológicos del pericarpo han demostrado ser de importancia taxonómica tanto a nivel de familia como en las categorías inferiores (Cantino et al. 1992; Ryding 1994, 1995), para *Clinopodium* la información sobre la histología de los frutos es por demás escasa. Solo Martín Mosquero et al. (2004) han descrito en detalle la carpología de *C. vulgare* subsp. *arundanum* (Boiss.) Nyman y *C. nepeta* (L.) Kuntze (sub nom. *Calamintha nepeta* subsp. *nepeta*) en tanto que Wojciechowska (1966), Ryding (1995, 2010) y Duletić-Laušević and Marin (1999) mostraron resultados mayormente cuantitativos sobre cada región del pericarpo de otras 6 especies, entre las que se incluye a *C. bolivianum*. Estos datos tan fragmentarios impiden hacer una evaluación sobre su incidencia taxonómica.

Epicarpo.—La estructura del pericarpo de las especies analizadas en este trabajo pusieron en evidencia dos patrones anatómicos en el epicarpo que se asocian a la producción de mucílagos. Así, en las especies con mixocarpia, el epicarpo unistrato consta de células mucilaginosas grandes, alargadas tangencialmente, en

transcorte, que se entremezclan con otras no mucilaginosas alargadas radialmente, como ocurre en *C. bolivianum* subsp. *tarijense* (cfr. Fig. 3 B), *C. brownei* y *C. darwinii*.

Al igual que en otros géneros con especies mixocárpicas de las Menthinae, p.e. *Conradina* A. Gray, *Dicerandra* Benth., *Hedeoma* Pers., *Pycnanthemum* Michx. y *Rhabdocalon* Epling (Ryding 1995), las especies de *Clinopodium* coinciden con el tipo 1 del ordenamiento de células mucilaginosas y no mucilaginosas propuesto por Ryding (1995), es decir células mucilaginosas solitarias o en pequeños grupos, separadas por pequeñas células no mucilaginosas.

El segundo patrón observado en *Clinopodium* (*C. odorum*, Fig. 3 D, y *C. gilliesii*) corresponde a un epicarpo con células que no producen mucílago las que, a diferencia de las no mucilaginosas del patrón anterior, son alargadas tangencialmente en transcorte. Estas características celulares son similares a las observadas en *C. vulgare* por Wojciechowska (1966). El engrosamiento de las paredes celulares en las especies aquí estudiadas es uniformemente delgado, lo que difiere de lo reportado por Martín Mosquero et al. (2004) para *C. vulgare* subsp. *arundanum*, quien describió e ilustró a las células no mucilaginosas con paredes radiales engrosadas. Por su parte, *C. nepeta* está reportada como especie no mucilaginosas (Moon et al. 2009) a la par que Martín Mosquero et al. (2004) describe la estructura de su epicarpo acorde a la ausencia de mixocarpia. Por nuestra parte, pudimos comprobar que esta especie, además de secretar mucílago, posee las características del epicarpo del patrón 1 señalado más arriba.

La estructura del epicarpo en las especies no mucilaginosas de Nepetoideae es variable: así, el epicarpo puede estar integrado por: esclereidas exclusivamente (p.e. *Lepechinia*, Ryding 1995, 2010), sólo por células con todas sus paredes delgadas (p.e. *Clinopodium*, este trabajo), o todas engrosadas (p.e. *Hyptis*, obs. pers.), o sólo por células con paredes tangenciales delgadas y radiales engrosadas (p.e. *C. vulgare* subsp. *arundanum*, Martín Mosquero et al. 2004), o paredes tangenciales engrosadas y radiales delgadas (p.e. *Lophanthus* Adans., *Hymenocrater* Fisch. & C.A. Mey., *Meehania* Britton ex Small & Vail, Budansteu & Lobo 1997); por último, las células del epicarpo pueden alternar con tricomas (*Clinopodium* spp., este trabajo).

Mesocarpo.—Acorde a Ryding (1995, 2010), el número de capas del mesocarpo de las Nepetoideae varía desde 2–15 (25), incluyendo la capa de esclereidas. En *Clinopodium*, el mesocarpo consta de 3–4 capas que se diferencian claramente en 3 regiones, por la forma y tipo de células (aplanadas o isodiamétricas, parenquimáticas o esclerenquimáticas) y su coloración (intensamente teñidas o incoloras). Esta organización es similar a lo esquematizado por Ryding (2010) para Mentheae. Sin embargo, en *Clinopodium* la región externa es distinta según se trate de especies mixocárpicas o no; en las primeras, las células son siempre aplanadas de bordes difusos e intensamente teñidas, a diferencia de lo que observa Martín Mosquero et al. (2004) para *C. nepeta*, mientras que en las no mixocárpicas las células son más o menos redondeadas e incoloras tal como se indica para *C. vulgare* subsp. *arundanum* (Martín Mosquero et al. 2004). Por su parte, la región media, de células isodiamétricas o aplanadas, es siempre incolora en las especies argentinas a diferencia de lo observado para las dos especies anteriores por Martín Mosquero et al. (2004). Por último, el grosor de la capa más interna, que corresponde a las esclereidas en empalizada, es el carácter más variable incluso dentro de los *Clinopodium* estudiados, pudiendo ser más o menos isodiamétricas (*C. bolivianum* subsp. *tarijense*) o alargadas radialmente (*C. brownei*, *C. darwinii*, *C. gilliesii*, *C. odorum*). La presencia y número de cristales en las esclereidas es también un rasgo a ser considerado. Así, *C. vulgare* subsp. *arundanum* se destaca por el elevado número de cristales en el lumen (hasta 12) mientras que *C. nepeta* posee sólo uno (Martín Mosquero et al. 2004) en contraposición a las especies nativas de Argentina aquí analizadas que carecen de cristales. Al respecto, Ryding (1995) advirtió la importancia taxonómica de este carácter al señalar los distintos tipos y cantidad de cristales que pueden aparecer en Lamioideae y Nepetoideae.

Endocarpo.—Al igual que la generalidad propuesta por Ryding (1995, 2010) para Lamiaceae, el endocarpo es unistrato de células parenquimáticas. Según este autor, la presencia o ausencia de engrosamiento en las paredes celulares tiene importancia taxonómica. Por nuestra parte, hemos observado que la mayoría de las especies analizadas poseen paredes celulares con engrosamientos de tipo escalariforme coincidiendo con Martín Mosquero et al. (2004) quienes lo señalan para *C. nepeta* pero no lo reportan para *C. vulgare* subsp. *arundanum*.

Consideraciones taxonómicas

Bräuchler et al. (2010) analizaron ca. 50% de las especies de *Clinopodium* mediante datos de ADN nuclear (ITS) y cloroplastidial (*trnK/trnL-F*), definiendo numerosos subgrupos monofiléticos dentro de este género s. l.

En el grupo *Kurzamra*, con buen soporte en el análisis cloroplastidial (cpDNA), estos autores ubicaron a *Clinopodium darwinii* junto a *Kurzamra pulchella* (Clos) Kuntze y otras dos especies: *Clinopodium multiflorum* (Ruiz & Pav.) Kuntze y *Cuminia eriantha* (Benth.) Benth., estas últimas endémicas del centro-sur de Chile. Desde el punto de vista carpológico, *C. darwinii* y *K. pulchella* son mixocárpicas y comparten similar estructura del pericarpo (obs. pers.); estos caracteres se suman al hábito de matas en forma de cojín propio de zonas semi-desérticas, si bien *C. darwinii* es de la estepa patagónica a diferencia de *K. pulchella* que vive a grandes altitudes (3500–4100 m). En cuanto a las diferencias, estas dos entidades se distinguen no solamente por su cáliz (oscuremente bilabiado, tubuloso, lóbulos netamente no subulados y no plumosos en *C. darwinii* vs. actinomorfo, tubo muy corto y cilíndrico-infundibuliforme, lóbulos largamente subulados y plumosos en *K. pulchella*) sino también por la forma (piriforme vs. oblongo ovado) y tamaño de los frutos (1,8–1,9 mm vs. 1,5 mm). Un rasgo destacable diferencial son los cristales en el interior de las esclereidas que están presentes en *K. pulchella* (obs. pers.) y totalmente ausente en las especies de *Clinopodium* analizadas.

Clinopodium bolivianum aparece agrupado con especies de *Minthostachys* en el grupo *Minthostachys*, tanto en el análisis cpDNA como en ITS (Bräuchler et al. 2010); estos resultados agrupan a *C. bolivianum* junto a *C. gilliesii*, *C. axillare* (Rusby) Harley y *C. vanum* (Epling) Harley & A. Granda, los que, morfológicamente, son similares por la forma del cáliz (campanulado o cilíndrico). Por su parte, Schmidt-Lebuhn (2008) agrupa a estas mismas especies junto a otras, bajo el grupo parafilético *Xenopoma* en el árbol obtenido del análisis cladístico morfológico y también en el logrado por análisis molecular. En cuanto a las especies argentinas, *C. bolivianum* y *C. gilliesii*, emparentadas según estas propuestas, poseen frutos similares por compartir tricomas solo en su ápice diferenciándose por la forma, tamaño, reacción mucilaginoso y estructura del pericarpo (cfr. Tabla 1). Se carecen de datos carpológicos para las otras especies de *Clinopodium* del grupo *Minthostachys*.

Clinopodium brownei fue solamente incluido en el análisis molecular de Bräuchler et al. (2010) donde aparece en una posición irresuelta dentro de los *Clinopodium* del Nuevo Mundo. Esta especie no presenta particularidades destacables en su carpolología siendo similar en la estructura del pericarpio y en la reacción mucilaginoso a *C. bolivianum* y *C. darwinii*.

Por último, *Clinopodium odorum* al momento no ha sido incluido en ningún análisis filogenético.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo contó con la financiación de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba (Secyt-UNC). Las autoras expresan su agradecimiento a los curadores y al personal técnico de los herbarios ACOR, CORD, CTES, LIL y SI por poner a nuestra disposición el material de estudio, a M. Cuasolo por la búsqueda de bibliografía de difícil acceso, a las dibujantes del Herbario CORD por la confección de la ilustración lineal de este trabajo y, a los revisores anónimos, en particular Giovannina Orsini V. (MYF), por las sugerencias recibidas para mejorar el manuscrito. La primera autora agradece a Secyt-UNC por la beca doctoral concedida.

REFERENCIAS

- BONZANI, N.E., V.S. BRAVI, AND G.E. BARBOZA. 2011. Estudios morfo-anatómicos de gineceo y fruto en especies de *Mentha* (Lamiaceae) de Argentina. *Caldasia* 33(2):349–366.
- BRAÜCHLER, C., H. MEIMBERG, AND G. HEUBL. 2010. Molecular phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae): taxonomy, biogeography and conflicts. *Molec. Phylogen. Evol.* 55:501–523.
- BUDANSTEV, A.L. AND T.A. LOBOVA. 1997. Fruit morphology, anatomy and taxonomy of tribe Nepeteae (Labiatae). *Edinburgh J. Bot.* 54:183–216.
- CANTINO, P.D., R.M. HARLEY, AND S.J. WAGSTAFF. 1992. Genera of Labiatae: status and classification. In R.M. Harley and T. Reynolds, eds. *Advances in Labiatae Science*. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 511–522.

- DULETIĆ-LAUŠEVIĆ, S. AND P.D. MARIN. 1999. Pericarp structure and myxocarpy in selected genera of Nepetoideae (Lamiaceae). Nord. J. Bot. 19:435–446.
- GONZÁLEZ, A.M. AND C.L. CRISTÓBAL. 1997. Anatomía y ontogenia de semillas de *Helicteres lhotzkyana* (Sterculiaceae). Bonplandia 9(3–4):287–294.
- HARLEY, R.M. 1985. Labiadas. I. *Hyptis*. In: R. Reitz, ed. Fl. Il. Caterinense, fasc. LABI: 1–69.
- HARLEY, R.M. 2008. Lamiaceae. En Zuloaga, F.O., O. Morrone and M.J. Belgrano, eds. Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 107:2362–2392.
- HARLEY, R.M. AND A. GRANDA PAUCAR. 2000. List of species of Tropical American *Clinopodium* (Labiatae), with new combinations. Kew Bull. 55:917–927.
- HARLEY, R.M. (AND 12 OTHERS). 2004. Labiatae. In J. W. Kadereit, ed. The families and genera of vascular plants, Vol VII, Flowering plants: Dicotyledons (Lamiales except Acanthaceae including Avicenniaceae). Berlin and Heidelberg: Springer Verlag. Pp. 167–275.
- HUSAIN, S.Z., P.D. MARIN, Č. ŠILIĆ, M. QAISER, AND B. PETKOVIĆ. 1990. A micromorphological study of some representative genera in the tribe Saturejeae (Lamiaceae). Bot. J. Linn. Soc. 103:59–80.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw Hill Book Co, New York, New York.
- MARTÍN MOSQUERO, M.A., R. JUAN, AND J. PASTOR. 2004. Estudio de las núculas de *Calamintha* Mill. y *Clinopodium* L. (Lamiaceae) en el suroeste de España. Lazaroa 25:135–141.
- MOON, H.K., S.P. HONG, E. SMETS, AND S. HUYSMANS. 2009. Micromorphology and character evolution of nutlets in Tribe Mentheae (Nepetoideae, Lamiaceae). Syst. Bot. 34:760–776.
- MUNSELL, A.H. 2000. Munsell soil color charts. Munsell Color Company, I.N.C., Baltimore, Maryland, U.S.A.
- RYDING, O. 1992. Pericarp structure and phylogeny within Lamiaceae subfamily Nepetoideae tribe Ocymeae. Nord. J. Bot. 12:273–298.
- RYDING, O. 1994. The importance of pericarp structure in the classification of Labiates. Lamiales Newslett. 3:1–3.
- RYDING, O. 1995. Pericarp structure and phylogeny of the Lamiaceae – Verbenaceae – complex. Pl. Syst. Evol. 198: 101–141.
- RYDING, O. 2001. Myxocarpy in the Nepetoideae (Lamiaceae) with notes on myxodiaspory in general. Syst. & Geogr. Pl. 71:503–514.
- RYDING, O. 2010. Pericarp structure and phylogeny of tribe Mentheae (Lamiaceae). Pl. Syst. Evol. 285:165–175.
- SCANDALIARIS, M. AND G.E. BARBOZA. 2011. Caracterización morfohistológica de frutos de especies argentinas de *Lepechinia* (Lamiaceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 46 (Supl.):120.
- SCANDALIARIS, M. AND G.E. BARBOZA. 2012. Caracterización morfohistológica de frutos de "peperina" *Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epling y "tomillo serrano" *Hedeoma multiflorum* Benth. (Lamiaceae, Nepetoideae). XI Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral – III Reunión Argentina de Ciencias Naturales. Libro de Resúmenes: 40.
- SCHMIDT-LEBUHN, A.N. 2008. Monophyly and phylogenetic relationships of *Minthostachys* (Lamiaceae, Nepetoideae) examined using morphological and nrITS data. Pl. Syst. Evol. 270:25–38.
- STEARNS, W.T. 1983. Botanical Latin. Ed. David & Charles. Newton Abbot. Devon.
- WOJCIECHOWSKA, B. 1966. Morphology and anatomy of fruits and seeds in the family Labiatae with particular respect to medicinal species. Monogr. Bot. 21:3–244.
- WOOD, J.R.I. 2011. *Clinopodium* L. (Lamiaceae) in Bolivia. Kew Bull. 66:199–226.